第 38 卷第 8 期 2018 年 4 月
生 态 学 报
ACTA ECOLOGICA SINICA
Vol.38,No.8 Apr.,2018

DOI: 10.5846/stxb201705220945
李品,冯兆忠,尚博,袁相洋,代碌碌,徐彦森.6 种绿化树种的气孔特性与臭氧剂量的响应关系.生态学报,2018,38(8):2710-2721.
Li P, Feng Z Z, Shang B, Yuan X Y, Dai L L, Xu Y S.Stomatal characteristics and ozone dose-response relationships for six greening tree species.Acta Ecologica Sinica,2018,38(8):2710-2721.

6 种绿化树种的气孔特性与臭氧剂量的响应关系

李 品[1,2],冯兆忠[1,2,*],尚 博[1,2],袁相洋[1,2],代碌碌[1,2],徐彦森[1,2]
1 中国科学院生态环境研究中心 城市与区域生态国家重点实验室,北京 100085
2 中国科学院大学资源环境学院,北京 101408

摘要:采用开顶式气室装置研究 5 种臭氧(O_3)浓度对 6 种绿化树种,即杨树基因型'546'(*Populus deltoides* cv. '55/56' × *P. deltoides* cv. 'Imperial')和'107'(*P. euramericana* cv. '74/76')、白蜡(*Fraxinus chinensis*)、法桐(*Platanus orientalis*)、洋槐(*Robinia pseudoacacia*)、国槐(*Sophora japonica*)的气孔密度、开度和大小的影响。结果表明,随着 O_3浓度的升高,气孔密度、开度和大小均显著降低,不同树种的各项气孔特征指标之间均存在显著性差异,O_3处理、树种、采样时期以及 O_3和树种之间、采样时期和树种之间存在显著交互作用。6 种树种的各项气孔指标与 O_3剂量(AOT40,小时 O_3浓度大于 40nmol/mol 的累计值)间具有显著的线性负相关关系(P<0.05),即随着 O_3浓度的升高而显著降低。为深入研究环境变化背景下城市植物的叶组织结构和功能在适应地表 O_3污染方面提供理论证据。
关键词:臭氧;剂量;气孔特征;木本;线性关系

Stomatal characteristics and ozone dose-response relationships for six greening tree species

LI Pin[1,2], FENG Zhaozhong[1,2,*], SHANG Bo[1,2], YUAN Xiangyang[1,2], DAI Lulu[1,2], XU Yansen [1,2]
1 *State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Science, Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100085, *China*
2 *College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing* 101408, *China*

Abstract: Ground-level ozone (O_3) is considered as one of the most phytotoxic air pollutants due to its significant damaging effect to plants. Ozone concentration is rising at a rate of approximately 0.5%—2% per year over the mid-latitudes of the northern hemisphere due to the rapid industrialization and urbanization during the last three decades. High levels of O_3 occur during summertime in most parts of China, and are expected to increase further as NO_X precursors are rising. Open top chambers were used to explore the stomatal characteristics (i.e., stomatal density, aperture, and size) of six greening tree species (*Populus deltoides* '55/56' × *P. deltoides* 'Imperial', *P. euramericana* '74/76', *Fraxinus chinensis*, *Platanus orientalis*, *Robinia pseudoacacia*, and *Sophora japonica*) in response to different O_3 exposure treatments for one growing season. One-year-old seedlings of the selected species, representing a wide range of woody species used for urban greening in Beijing, showed great variation in the stomatal characteristics among the species. Generally, stomatal density, stomatal aperture, and stomatal size were all significantly decreased with increasing ozone concentrations. Specifically, there were significant differences in stomatal characteristics among the six tree species. Furthermore, there were significant interaction effects among the tree species, ozone treatments, sampling times, and their interactions. All six species showed a significant negative linear correlation ($P < 0.05$) between stomatal parameters and the O_3 dose index AOT40 (O_3 concentration

基金项目:国家自然科学基金项目(31500396, 41771034);中国科学院前沿科学重点研究项目(QYZDB-SSW-DQC019);中国科学院"百人计划"项目

收稿日期:2017-05-22; **网络出版日期**:2018-01-08

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: fzz@rcees.ac.cn

increased hourly over a threshold of 40nmol/mol during daylight hours). Among the linear relationships between the stomatal parameters and AOT40, *Populus* showed the maximum slope, and the order of the O_3 sensitivity was *Populus* > *P. orientalis* > *F. chinensis* > *R. pseudoacacia* > *S. japonica*. Our results provide new evidence for research on the effects of ground-level O_3 pollution on leaf tissue structure and functions of greening plants under environmental change.

Key Words: ozone; dose; stomatal characteristics; woody species; linear relationship

地表臭氧(O_3)主要由氮氧化物(NO_x)和挥发性有机化合物(VOCs)等前体物经光化学反应生成,是一种具有极强氧化毒性作用的二次污染物和重要的温室气体[1]。随着我国工业化与城市化进程的加快,NO_x和VOCs 等前体物显著增加[2],地表 O_3浓度也不断升高。根据环保部网站监测数据显示,O_3正在成为我国主要城市夏季的首要空气污染物,其中夏季小时平均 O_3浓度高达 300nmol/mol 以上,年均最大 O_3浓度达到60nmol/mol[3-4],远超过敏感树种的受害临界负荷[5],对树木生长和森林生态系统服务功能产生严重威胁[6]。

城市树木在维持城市生态平衡,改善和缓解城市生态环境问题等方面起着无可替代的重要作用。但随着O_3浓度的升高,研究发现暴露在 O_3下的树木出现一系列的伤害表征,如叶片出现缺绿斑、变黄、早衰、脱落等可见伤害症状[7-9],光合速率降低[10-12],气孔反应滞后甚至失灵[13-14],水分消耗量增加[14-15],树木生物量降低[16],改变生物量分配格局[11]和树木对病虫害以及环境胁迫的抵御能力[17],从而降低城市树木作为“碳汇”和“清洁工”改善生态环境问题的潜力[18-19]。

植物气孔是进行光合作用和蒸腾作用等气体交换的重要调控器官,其气孔特征(数量、密度、开度、大小等)的变化体现了对环境变化及逆境胁迫响应与适应的结果。O_3作为逆境胁迫因子,通过气孔进入植物体内,气孔特征决定了 O_3的进入量[20],也是评价 O_3对植物伤害的关键因素[21]。目前,高浓度 O_3对城市绿化树种的叶片气孔数量特征影响的研究有一些报道[22-25],得出有差异的结论:高浓度 O_3处理显著降低叶片气孔开度和大小,但对气孔密度没有显著影响[22, 24]或者增加了气孔密度[23, 25]。以上研究都是基于单个树种单一 O_3升高浓度的熏蒸结果,由于基于不同的树种、O_3浓度和实验持续期,很难评价 O_3对植物气孔特征的影响以及对植物产生的定量伤害。目前,根据不同浓度梯度的 O_3与植物生理指标、生物量、产量、可见伤害症状等建立剂量响应关系[16, 26],从而定量评价 O_3对植物的伤害,是有效可行的方法。考虑到树木生产缓慢,若干年后收获生物量来评估在实际过程中很难实现。而根据生理指标,特别是敏感性的指标——气孔特征,进行相应的O_3剂量关系研究,尚未见报道。本实验选取的 6 种树种,作为城市行道木、风景园林绿化、防护林体系构成在北方地区广泛栽种。通过研究不同 O_3浓度胁迫对这 6 种城市绿化树种叶片气孔的影响效应,并根据 O_3浓度梯度下气孔特征指标的响应,建立 O_3浓度与气孔指标的剂量关系,以期为地表 O_3污染下筛选抗污染的树种及保护城市绿化树木少受 O_3伤害提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　试验区概况

实验区位于北京市延庆区延庆镇唐家堡村(40°45′N, 115°97′E),在北京市区的东北方向,属大陆性季风气候,是温带与中温带、半干旱与半湿润带的过渡连带。气候冬冷夏凉,年平均气温 10.2℃,夏季平均气温22—25℃,年降水量 567mm,年平均日照 2800h。

1.2　实验设计

实验选用 6 种城市绿化树种的一年生幼苗:2 种不同基因型的杨树‘546’(*Populus deltoides* cv. ‘55/56’ × *P. deltoides* cv. ‘Imperial’)和‘107’(*P. euramericana* cv. ‘74/76’)、白蜡(*Fraxinus chinensis*)、法桐(*Platanus orientalis*)、洋槐(*Robinia pseudoacacia*)、国槐(*Sophora japonica*)。2016 年 4 月 10 日将长势较为一致的幼苗统一移入 20L 的圆形花盆中,用当地土壤与购买的草炭土按体积比 3:1 混匀后装盆作为栽培基质。待移植两周

后,选择树高和基径相差不大的幼苗,移入开顶式气室(OTCs)中,每间隔 1—2d 浇水,以适应气室内环境。10d 后进行 O_3熏蒸处理。

本实验在 15 个 OTC 中进行 O_3熏气,OTC 为高 3.0m,边长 1.0m 的正八面柱体。实验共设 5 个处理:CF(过滤大气,charcoal filtered ambient air,[O_3]<40nmol/mol),NF(环境大气[O_3])、NF20(NF+20nmol/mol[O_3])、NF40(NF+40nmol/mol[O_3])、NF60(NF+60nmol/mol [O_3])。每个处理有 3 个 OTC 重复,每个 OTC 内每种树 5—6 盆,并随机分布。实验期间各个罩子的 O_3浓度由美国热电公司 49i 臭氧分析仪监测(Model 49i; Thermo Scientific, Franklin, MA, USA),熏气时间从 2016 年 6 月 26 日到 9 月 30 日,持续 96d,每天熏气时间为 10h(08:00—18:00),阴雨天停止熏气。每个 OTC 外面和内部的温度和湿度由 CR1000 数据记录器监测(Campbell Scientific, North Logan, Utah, USA),每 5min 记录一次。在整个熏气期间,OTC 内部的温度比外面环境平均高 1.7℃,湿度平均低 4.5%。分别于 8 月中上旬(生长旺期)和 9 月中下旬(生长末期),分两次进行取样测定指标。所有树种在取样时的实验期间小时 O_3 浓度超过 40nmol/mol 的累计值(AOT40, the accumulated hourly mean O_3 concentration over a threshold of 40nmol/mol)详见表 1。

表 1 6 种树种 2 次取样时的 AOT40 值

Table 1 AOT40 values for six tree species at the first (beginning of August) **and second** (beginning of September) **sampling times**

树种 Species	取样时期 Sampling time	AOT40 (μmol/mol) 小时 O_3浓度超过 40nmol/mol 的累计值 Accumulated hourly mean O_3 concentration over a Threshold of 40nmol/mol				
		CF 过滤大气	NF 环境大气	NF20 环境大气加 20nmol/mol	NF40 环境大气加 40nmol/mol	NF60 环境大气加 60nmol/mol
杨树 546	8 月	1.4±0.39	7.2±0.13	12.4±0.27	17.8±0.55	23.9±0.33
Populus deltoides cv. '55/56' × *P. deltoides* cv. 'Imperial'	9 月	2.1±0.45	10.0±0.29	18.9±1.14	29.9±1.28	40.7±0.62
杨树 107	8 月	1.5±0.44	7.5±0.15	12.8±0.37	18.5±0.60	24.8±0.32
P. euramericana cv. '74/76'	9 月	2.1±0.45	10.0±0.29	19.0±1.14	30.1±1.29	41.1±0.61
白蜡	8 月	1.6±0.45	8.3±0.18	14.5±0.69	21.7±1.29	28.6±0.52
Fraxinus chinensis	9 月	2.2±0.45	10.5±0.33	19.9±1.10	31.9±1.33	43.6±0.64
法桐	8 月	1.9±0.45	9.5±0.24	16.6±1.05	25.2±1.25	33.2±0.61
Platanus orientalis	9 月	2.1±0.45	10.2±0.31	19.6±1.12	31.3±1.34	42.9±0.63
洋槐	8 月	1.7±0.45	9.2±0.22	16.1±0.98	24.3±1.25	32.2±0.60
Robinia pseudoacacia	9 月	2.3±0.44	10.8±0.34	20.7±1.13	33.3±1.34	45.7±0.72
国槐	8 月	1.9±0.45	9.7±0.27	17.6±1.12	27.3±1.31	36.7±0.65
Sophora japonica	9 月	2.5±0.44	11.4±0.38	22.2±1.28	35.9±1.30	49.5±0.81

1.3 指标测定

在 8 月中上旬(生长旺期)和 9 月中下旬(生长末期)两个时间段,分别在每个 OTC 中选择每种树苗 3 盆,于 9:00—11:00 间采集中上部(从顶端数第 5—8 片)阳生叶片,用指甲油印迹法进行取样:轻拭叶片表面灰尘,选择叶片远轴面中部靠近叶脉部位,均匀涂上无色指甲油,将其自然晾干,用镊子撕下已干的指甲油薄膜层,制作装片进行显微镜观察和测量[27-28]。

用 Dino-Lite AM7013MZT4(R4)显微镜照相仪拍照,用 DinoCapture 2.0 软件计算每幅图片上选定的 1mm^2 视野面积中的气孔个数(单位面积植物叶片包含的气孔数目),即为气孔密度(气孔数/mm^2)。随机选取每幅图片上完整清晰的 10 个气孔,用测微尺测量气孔长度、宽度,气孔长度为平行于气孔器的最长值,气孔宽度为垂直于气孔器的最宽值。计算气孔开度(气孔开度=πab,其中 a 表示 1/2 气孔长度,b 表示 1/2 气孔宽度)和气孔大小(气孔大小=气孔长度×气孔宽度),然后取 10 个气孔的平均值作为这幅图片上气孔特征的值。

1.4 数据分析

实验数据按 OTC 为重复单元($n=3$)。运用 SPSS 18.0 软件进行统计分析,选择 Tukey's Honestly

Significant Difference (HSD) 检验法分析被测指标在不同 O_3 浓度之间的差异,并选择一般线性模型(General Linear Model)将 O_3 处理、采样时间与树种进行多因素方差分析。文中数据为平均值±标准差(Mean±SD)。运用 Sigmaplot 10.0 绘制气孔特征指标与 AOT40 的线性关系图(普通最小二乘法),并用 Spearman′s 相关关系检验线性关系的显著性。图中实线代表线性拟合关系显著($P<0.05$),虚线代表不显著($P>0.05$)。

2　结果与分析

2.1　O_3 浓度升高对气孔密度的影响

三因素方差分析结果表明(表 2),O_3 处理、树种之间以及 O_3 和树种的交互作用对气孔密度的影响均有显著性差异;采样时期对气孔密度的影响不显著($P=0.1498$),但采样时期与树种的交互作用对气孔密度的影响是显著的。具体来讲,随着 O_3 浓度的升高,6 种树种的气孔密度在两个时期均呈显著的线性下降趋势($P<0.05$),且 8 月份的下降斜率均大于 9 月份(表 3 和图 1)。与 CF 相比,O_3 浓度升高至 NF20 已引起 6 种树的气孔密度普遍降低(图 2);NF60 处理下杨树 546、杨树 107、白蜡、法桐、洋槐和国槐的气孔密度与 CF 相比在生长旺期(8 月份)分别降低 26%、41%、39%、55%、43% 和 22%,在生长末期(9 月份)分别降低 14%、31%、35%、50%、40% 和 14%(图 2)。其中,杨树 546 和法桐的气孔密度在两个采样时期呈现显著差异($P<0.001$),在未受 O_3 熏蒸的 CF 中,杨树 546 和法桐的气孔密度随着生长进入末期分别下降 17% 和 14%(图 2);并且杨树 546 出现 O_3 与采样时期的交互作用。

表 2　O_3 处理、采样时间与树种的交互作用对气孔密度、气孔开度和气孔大小的影响的方差分析

Table 2　ANOVA results (*P* values) for main effects and interactions of O_3 treatment (CF, NF, NF20, NF40, and NF60), sampling time (August and September) and six tree species on stomatal density, stomatal aperture and stomatal size

变量 Parameters	气孔密度 Stomatal density	气孔开度 Stomatal aperture	气孔大小 Stomatal size
O_3 Ozone	<0.0001	<0.0001	<0.0001
采样时期 Sampling time	0.1498	<0.0001	<0.0001
树种 Tree species	<0.0001	<0.0001	<0.0001
O_3×采样时期 Ozone×sampling time	0.2039	0.0660	0.0070
O_3×树种 Ozone×tree species	<0.0001	<0.0001	<0.0001
采样时期×树种 Sampling time×tree species	<0.0001	<0.0001	<0.0001
O_3×采样时期×树种 Ozone×sampling time×tree species	0.4066	0.0519	<0.0001

2.2　O_3 浓度升高对气孔开度的影响

方差分析结果表明,O_3 处理、树种之间、采样时期均显著影响了气孔开度,其中 O_3 处理与树种之间、采样时期与树种之间表现出显著的交互作用(表 2)。随着 O_3 浓度的升高,6 种树种的气孔开度在两个时期均呈现显著的线性下降趋势($P<0.05$),且 8 月份的下降斜率大于 9 月份的(表 3 和图 3)。具体来看(图 4),O_3 处理显著影响了每种树种的气孔开度,但采样时期仅对杨树 546 和白蜡呈显著影响;并且在白蜡、法桐和国槐中出现 O_3 与采样时期的交互作用。与 CF 相比,O_3 浓度为环境浓度(即 NF,AOT40 在 8.3—11.4μmol/mol 之间,表 1)时,白蜡、法桐、洋槐和国槐的气孔开度已显著降低(图 2)。

2.3　O_3 浓度升高对气孔大小的影响

三因素方差分析结果表明(表 2),O_3 处理、树种之间、采样时期以及两两交互作用、三个因素交互作用对 6 种树种的气孔大小均有极显著的影响($P<0.01$,表 2)。从图 5 中可知,随着 O_3 浓度升高,所有 6 种树种在 2 个时期的气孔大小均呈现显著线性下降(除了杨树两个基因型品种 546 和 107 在 9 月份的趋势不显著外),同样 8 月份的下降斜率均大于 9 月份(表 3 和图 5)。O_3 处理、采样时期以及二者的交互作用对杨树 546、白蜡、法桐和国槐的气孔大小有显著影响,但杨树 107 和洋槐的气孔大小仅受 O_3 处理的影响(图 6)。

表 3 不同 O_3 处理下 6 种树种 2 个时期的气孔密度、气孔开度、气孔大小与 AOT40 的线性关系

Table 3 Parameters of linear equations between AOT40 and stomatal density, stomatal aperture, and stomatal size of six tree species in two sampling times (August and September)

树种 Species	采样时期 Sampling time	气孔密度 Stomatal density				气孔开度 Stomatal aperture				气孔大小 Stomatal size			
		斜率 Slope	截距 Intercept	r^2	P	斜率 Slope	截距 Intercept	r^2	P	斜率 Slope	截距 Intercept	r^2	P
杨树 546*Populus deltoides* cv.	8 月	−1.794	187.8	0.963	0.003	−8.624	773.2	0.951	0.005	−20.652	1426.4	0.966	0.003
‘55/56’ × *P. deltoides* cv. ‘Imperial’	9 月	−0.502	163.3	0.894	0.015	−5.113	742.3	0.934	0.006	−7.619	1288.3	0.763	0.053
杨树 107*P. euramericana* cv. ‘74/76’	8 月	−2.611	270.9	0.973	0.002	−6.859	610.4	0.865	0.022	−15.256	1042.7	0.930	0.008
	9 月	−2.051	275.3	0.983	0.001	−5.140	620.4	0.778	0.048	−8.305	1026.7	0.669	0.091
白蜡 *Fraxinus chinensis*	8 月	−2.582	258.0	0.978	0.001	−5.613	349.3	0.975	0.002	−12.239	877.9	0.995	<0.001
	9 月	−1.552	250.9	0.982	0.001	−2.602	269.8	0.993	<0.001	−5.632	696.9	0.974	0.002
法桐 *Platanus orientalis*	8 月	−2.473	231.4	0.962	0.003	−2.873	324.9	0.979	0.001	−11.307	930.3	0.979	0.001
	9 月	−1.414	195.3	0.936	0.007	−2.744	336.5	0.929	0.008	−10.445	935.0	0.948	0.005
洋槐 *Robinia pseudoacacia*	8 月	−4.579	488.5	0.987	0.001	−2.057	146.1	0.991	<0.001	−3.745	303.4	0.991	<0.001
	9 月	−3.139	468.1	0.987	0.001	−1.400	142.1	0.991	<0.001	−2.301	285.2	0.975	0.002
国槐 *Sophora japonica*	8 月	−1.416	279.7	0.994	<0.001	−3.279	307.4	0.911	0.012	−9.289	778.9	0.996	<0.001
	9 月	−0.734	269.8	0.993	<0.001	−2.437	308.4	0.998	<0.001	−4.923	700.7	0.900	0.014

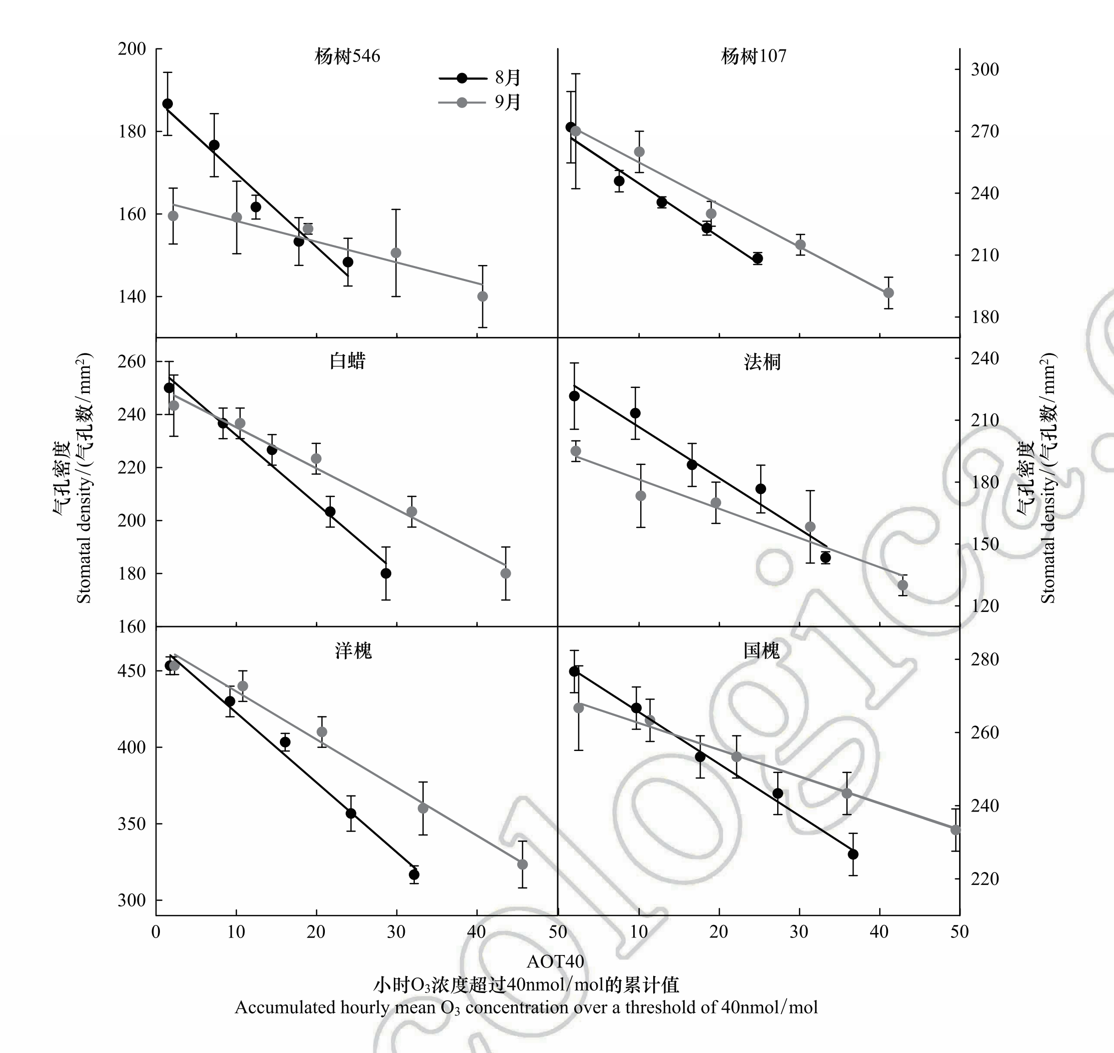
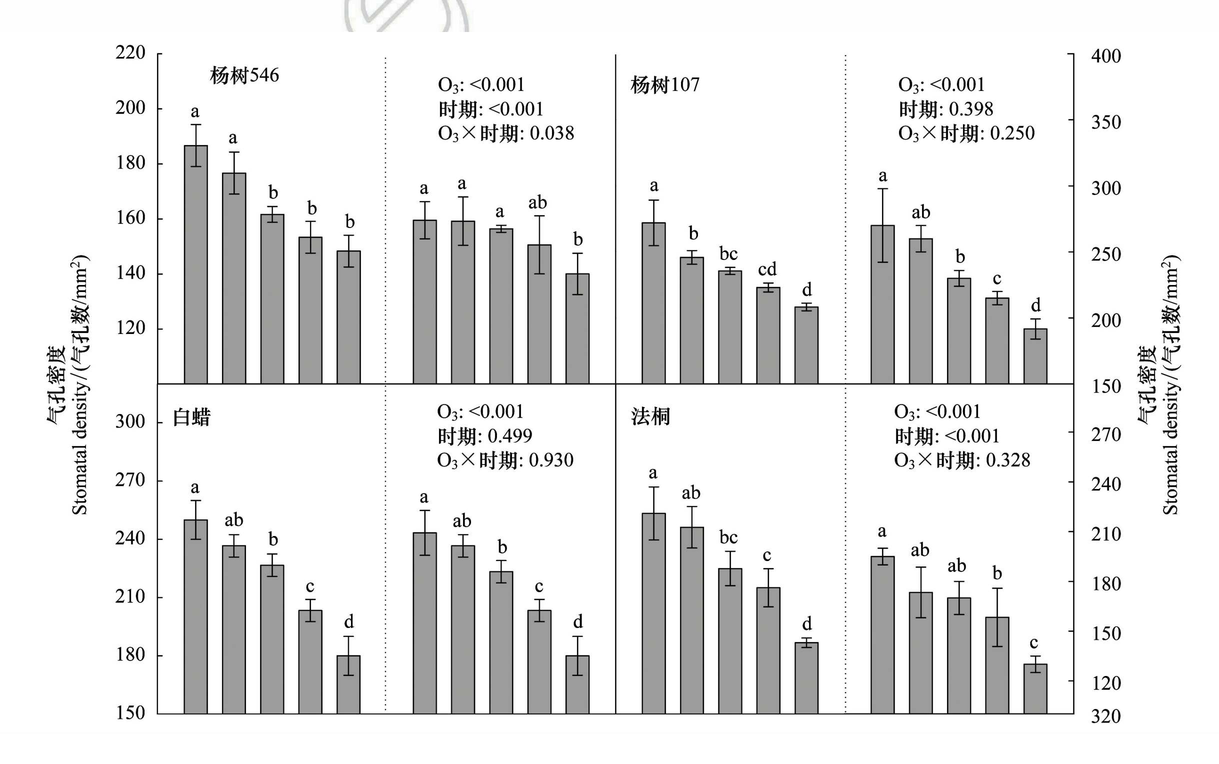


图 1　不同 O_3 处理下 6 种树种在 2 个采样时期的气孔密度的变化

Fig.1　Ozone exposure-response relationships with stomatal density for six tree species at two sampling times (August and September)



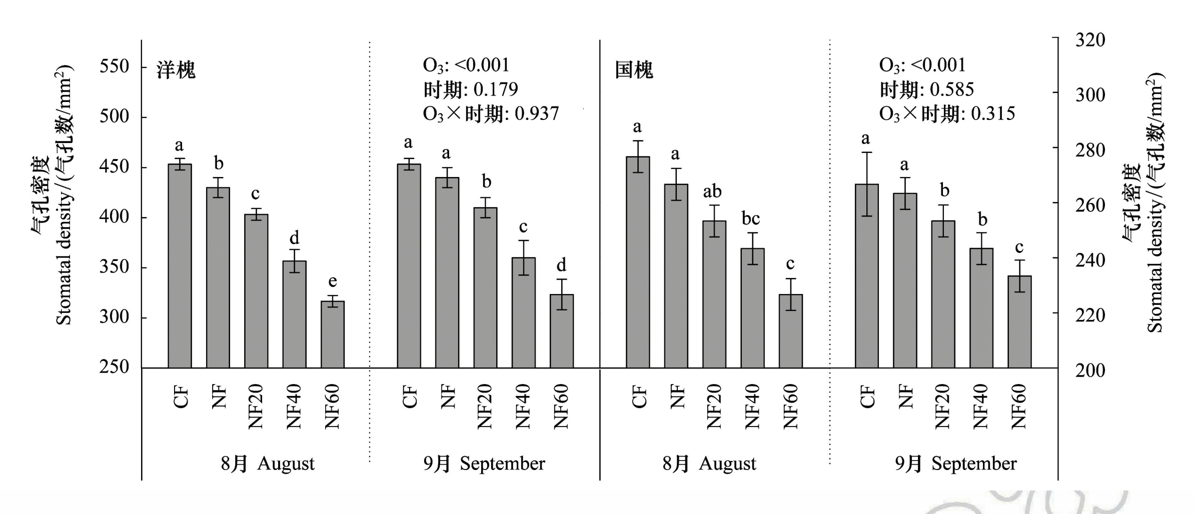


图 2 不同 O_3 处理下 6 种树种 2 个采样时期的气孔密度差异比较

Fig.2 The six tree species comparison of stomatal density (mean±S.D., *n* = 3) **across different O_3 treatments at two sampling times** (August and September)

不同小写字母间表示差异显著

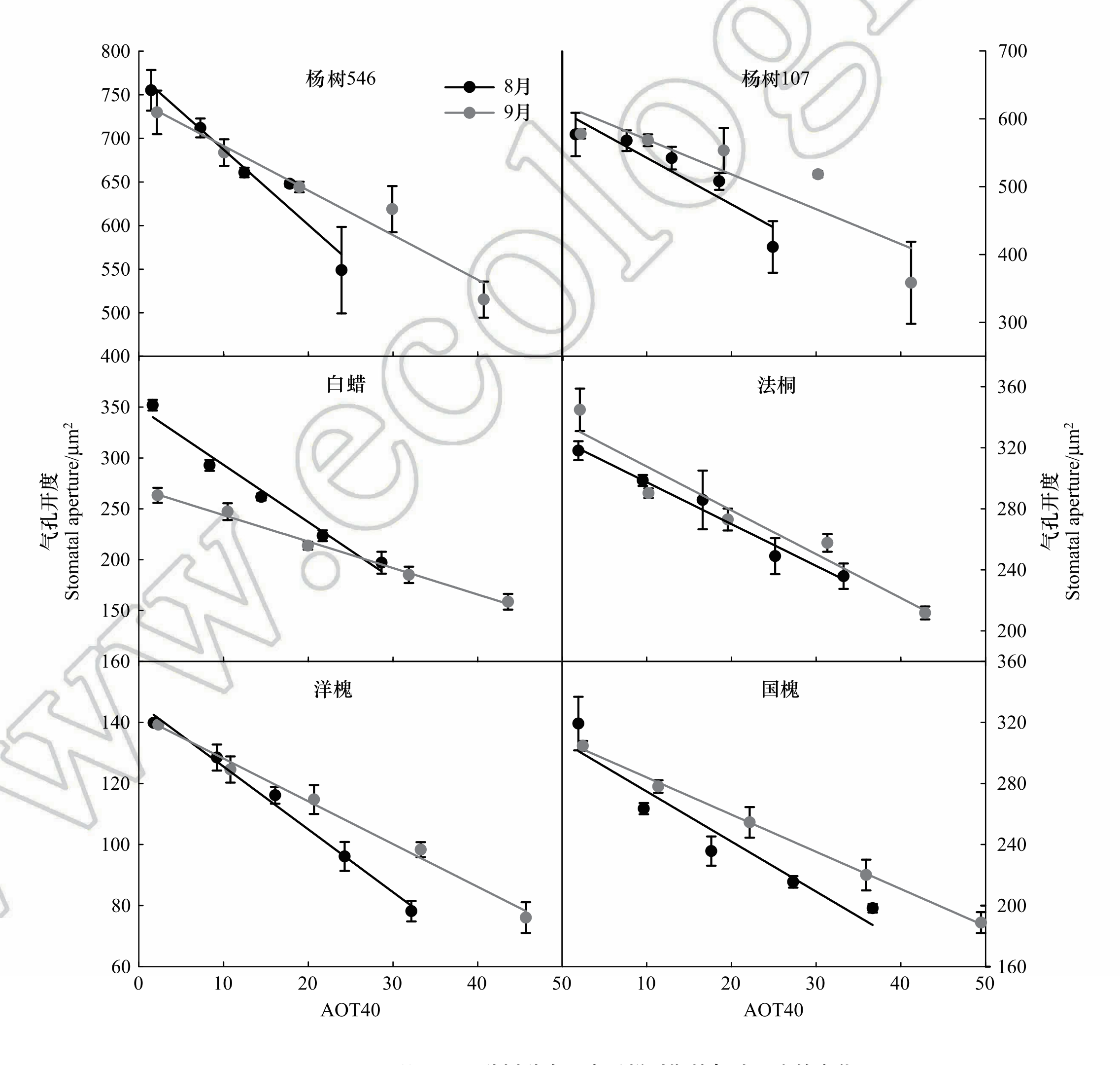


图 3 不同 O_3 处理下 6 种树种在 2 个采样时期的气孔开度的变化

Fig.3 Ozone exposure-response relationships with stomatal aperture for six tree species at two sampling times (August and September)

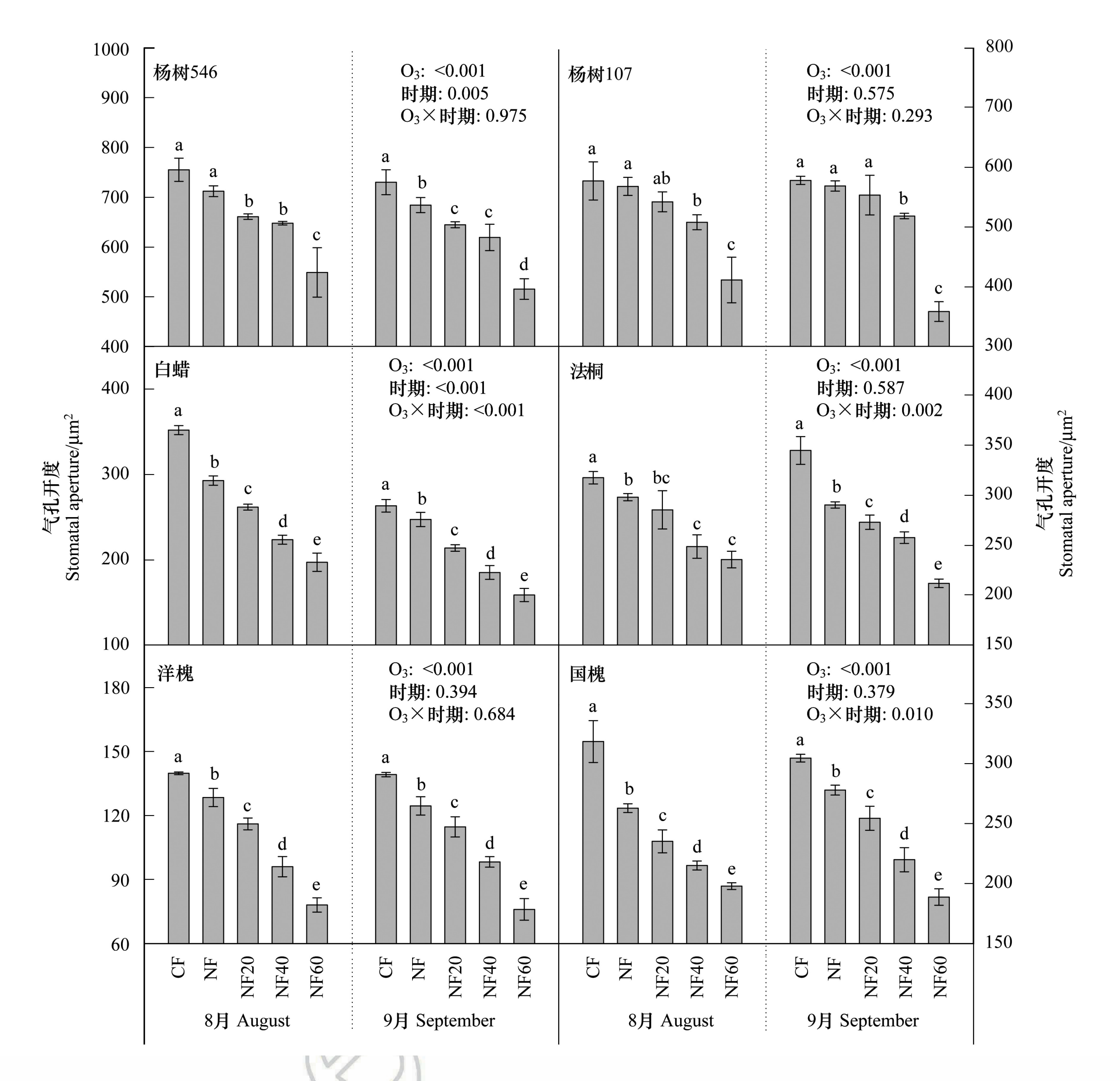


图 4　不同 O_3 处理下 6 种树种 2 个采样时期的气孔开度差异比较

Fig.4　The six tree species comparison of stomatal aperture (mean±S.D., $n=3$) **across different O_3 treatments at two sampling times** (August and September). **Different lowercase letters denote significant difference among the bars in each panel**

3　讨论

植物叶片上的气孔数量、大小和功能等属性对环境变化十分敏感[29-30]。O_3对植物的影响是一个累积的过程,随着时间的延长,O_3胁迫对叶片气孔属性的损害会不断加深[31-32]。本研究发现,随着 O_3浓度的不断增加和熏蒸时间的持续,6 种树种叶片气孔密度、开度和大小都不同程度的显著减小。这些都表明 O_3胁迫对这些树种叶片气孔影响具有累积效应。当 O_3累积吸收量超过自身解毒和修复能力时,气孔结构受损,发育受到影响[25],导致气孔密度、开度和大小呈现显著变化。气孔数变少、气孔变小,开张度变小,很可能是植物为了适应不断升高的 O_3环境而迅速做出的反应(驯化作用)。虽然这些变化不利于植物吸收 CO_2进行光合作用固定生物量,但这可能是植物在胁迫环境下把更多资源分配给维持性存活而不是生长性存活的一种权衡(trade-off)策略,也即在高浓度 O_3胁迫下抑制了气孔的生长发育。

本研究中 O_3胁迫减少气孔密度,与前人的研究结果不一致。徐文铎等[22]对 4 年生银杏叶片研究发现,高浓度 O_3使气孔密度下降,但未达到显著水平($P>0.05$);李梅等[24]发现高浓度 O_3熏蒸下 1 年生水蜡叶片的

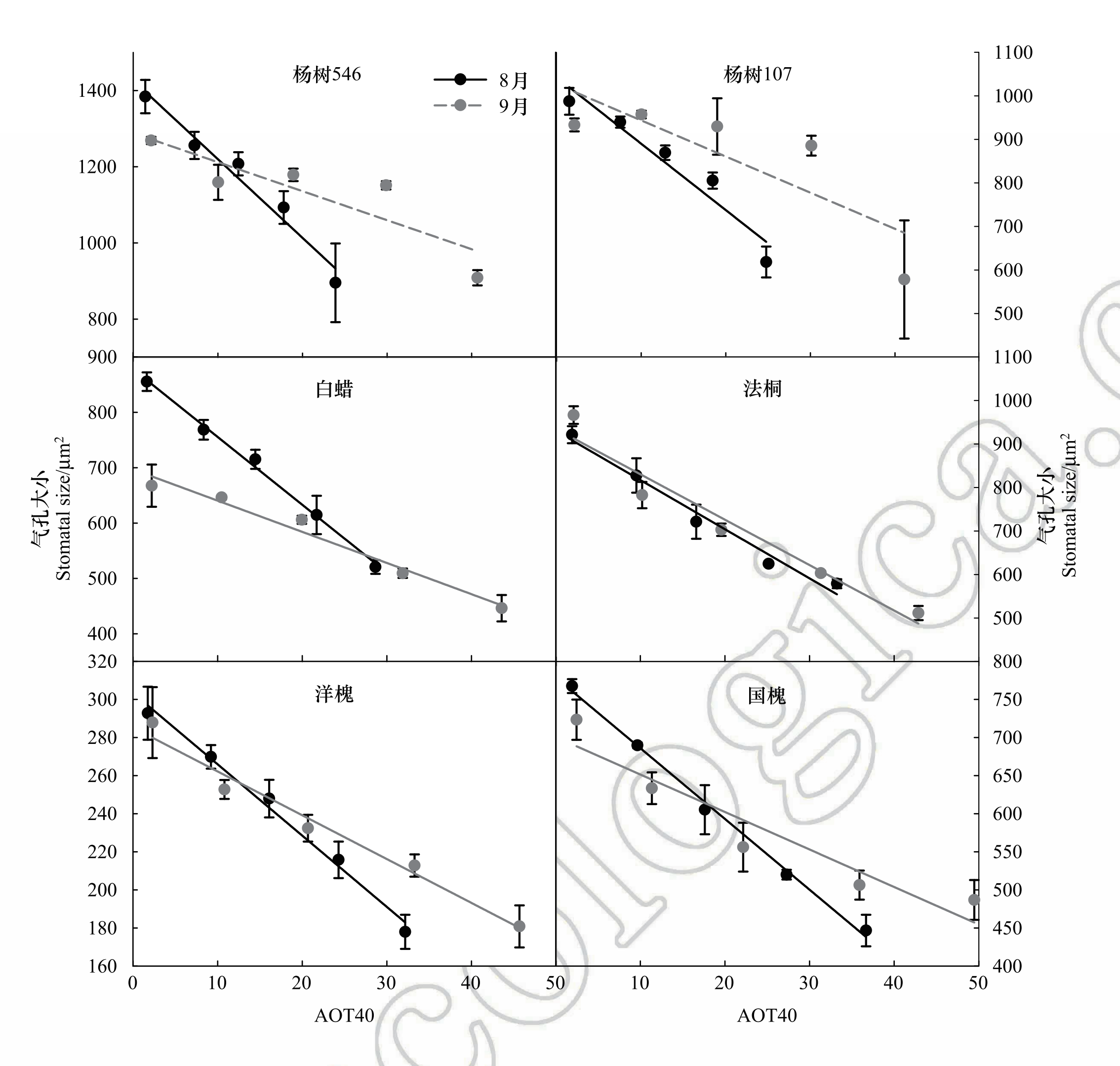


图 5 不同 O_3 处理下 6 种树种在 2 个采样时期气孔大小的变化

Fig.5 Ozone exposure-response relationships with stomatal size for six tree species at two sampling times (August and September)

气孔密度变化不显著;文志等[23]发现 O_3胁迫 62 天和 110 天,1 年生元宝枫叶片的气孔密度都显著增加。付伟等[25]发现高浓度 O_3熏蒸显著增加了 4 年生黄檗叶片的气孔密度。相关研究结果存在较大差异,可能与受 O_3熏蒸的时间和浓度影响、树种、以及叶发育阶段有关。在叶片形态学上,气孔产生和形成是在叶片发育早期[33-34],O_3浓度变化对处于发育早起叶片的气孔数量影响较大,成年叶片气孔数目除受环境因素影响外,还受遗传基因的控制。目前以上研究都是基于人工控制 OTC 中的短期观测 O_3增加对气孔参数的影响,这不一定反应植物在长期进化过程中对环境胁迫的适应。对于 4 年生的银杏成年叶片来说,即使成年叶片气孔数量基本形成,O_3胁迫仍在一定程度上使气孔数量和密度有所下降[22],这可能是由于高浓度 O_3伤害了气孔器细胞,也破坏表皮细胞的发生,因此气孔数量和密度有所降低[22]。因此,开展长期的实验有助于研究叶片生长发育阶段下气孔参数对 O_3浓度增加的响应这一较复杂的问题。

气孔大小、气孔开度决定了进入植物体内 O_3的量。气孔越大,开度越大,O_3进入量越多。本研究中 O_3胁迫减少了气孔开度和气孔大小,与前人的研究结果一致[11, 22-25, 35]。但也有结果发现,由于 O_3导致气孔反应滞后(sluggishness)甚至失灵[21, 35-36],使气孔面对胁迫时无法快速做出应激性的关闭反应来减少 O_3摄入量,从而降低 O_3对自身的伤害。这与不同树种对 O_3敏感性差异有关,相对敏感的树种很可能在相同的 O_3浓度下自身的解毒防御系统已经崩溃,保卫细胞作用失效从而使气孔无法关闭,增大了气孔开度。本研究的 6 种树种在持续的不同 O_3浓度熏蒸下气孔开度都减小,并随着 O_3剂量的增加,减小增加,这可能是气孔对环境做出的一

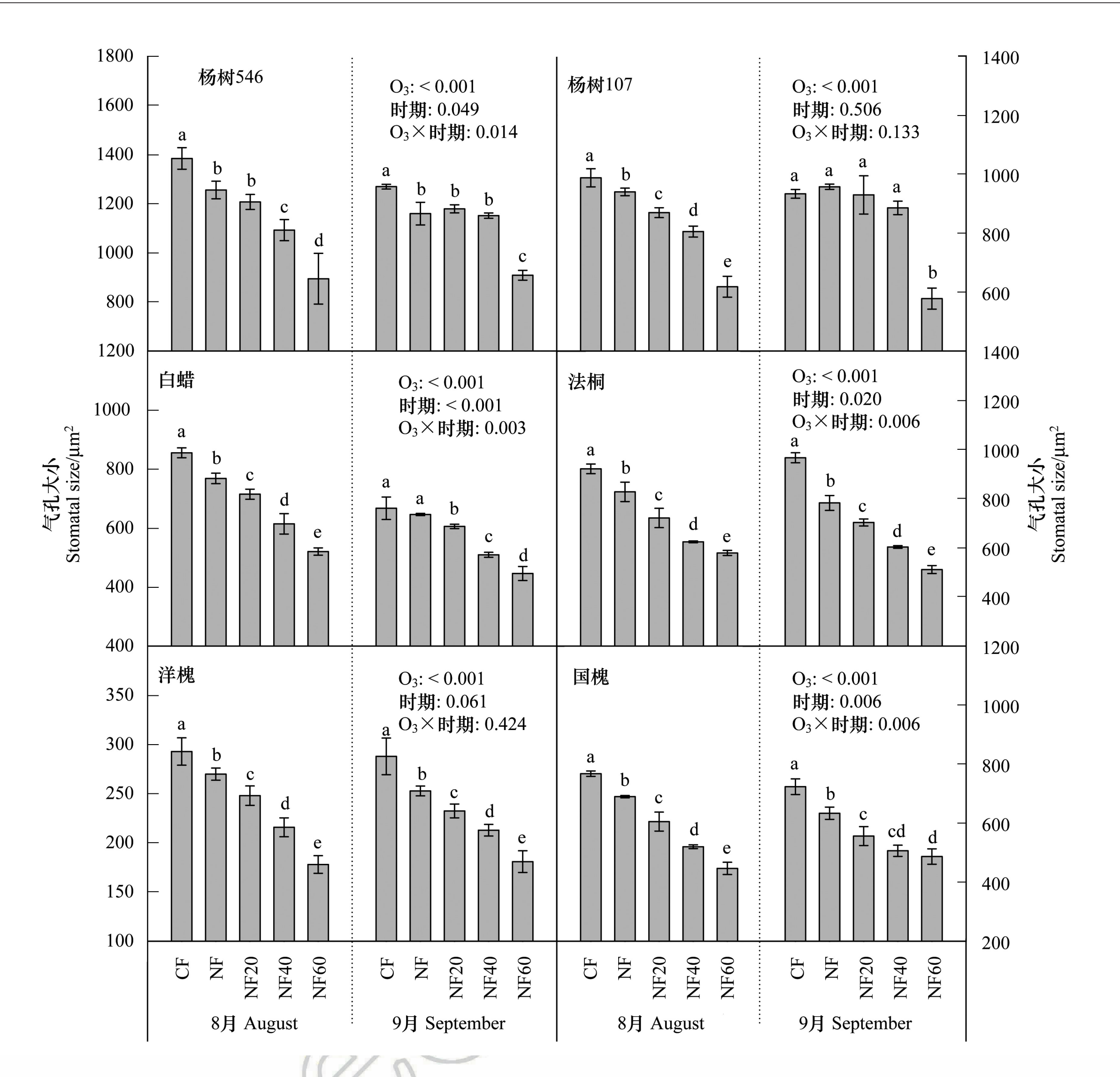


图 6　不同 O_3 处理下 6 种树种 2 个采样时期气孔大小的差异比较

Fig.6　The six tree species comparison of stomatal size (mean±S.D., n=3) **across different O_3 treatments at two sampling times** (August and September). **Different lowercase letters denote significant difference among the bars in each panel**

种适应调节反应。

本研究发现 O_3 处理与树种之间、采样时期与树种之间在气孔密度、开度和大小属性间都存在显著交互效应(表 2)。由于每种树种固有的气孔属性本身有很大差别(见图 2、4、6 中 CF 的对照数值);并且随着生长期的持续,固有气孔属性会随着环境变化和内在物候期而发生变化[29-30],因此表现出树种与采样时期之间存在显著交互效应。另外,树种对 O_3 的敏感性具有种属特异性[7, 9, 26],越敏感的树种会越早做出生理生态(光合生理、水分生理等)的响应变化[26];本研究设置了 5 种 O_3 浓度梯度,从每种树种的 AOT40 值来看(表 1),这 6 种树种的敏感性排序从高到低为:杨树 546>杨树 107>法桐>白蜡>洋槐>国槐,这与其他研究中的敏感性结果一致[9, 12, 16]。因此,随着 O_3 浓度的升高,不同敏感性树种的气孔属性做出响应的时间和 O_3 剂量不同,表现出树种与 O_3 处理(不同浓度)之间存在显著交互效应。

本研究仅对气孔特征指标与 O_3 剂量之间的线性关系进行了分析, 进一步对其他生理指标(如光合作用特征和抗氧化系统等)进行定量化分析将是今后研究的重点[26]。植物既可以短期调节气孔开闭又可以长期控制气孔发育来适应环境的变化。O_3 对植物的累积性以及植物对 O_3 胁迫的适应性,使得评价 O_3 胁迫对不同敏感性植物以及植物不同发育阶段的气孔运动,从而最终评价 O_3 对不同植物的影响和危害变得具有挑战性,

也将是今后开展多年长期实验研究的必要性所在。

4 结论

(1)6 种城市绿化树木的气孔特征指标对 O_3浓度升高极为敏感,随着 O_3浓度的升高,6 种树种的气孔密度、开度和大小出现不同程度的显著降低。

(2)树种与 O_3处理之间,以及树种与采样时间之间产生显著性的交互影响,可能与不同树种之间的气孔特征存在显著差异,以及生长旺期与末期叶片不同的气孔发育阶段有关。

(3)本研究为深入研究环境变化背景下城市植物的叶组织结构和功能在适应地表 O_3污染方面提供理论证据。

参考文献(References):

[1] Wang T, Xue L K, Brimblecombe P, Lam Y F, Li L, Zhang L. Ozone pollution in China: a review of concentrations, meteorological influences, chemical precursors, and effects. Science of the Total Environment, 2017, 575: 1582-1596.

[2] Liu X J, Zhang Y, Han W X, Tang A H, Shen J L, Cui Z L, Vitousek P, Erisman J W, Goulding K, Christie P, Fangmeier A, Zhang F S. Enhanced nitrogen deposition over China. Nature, 2013, 494(7438): 459-462.

[3] Chen W, Tang H Z, Zhao H M. Diurnal, weekly and monthly spatial variations of air pollutants and air quality of Beijing. Atmospheric Environment, 2015, 119: 21-34.

[4] Feng Z Z, Hu E Z, Wang X K, Jiang L J, Liu X J. Ground-level O_3 pollution and its impacts on food crops in China: a review. Environmental Pollution, 2015, 199: 42-48.

[5] Novak K, Skelly J M, Schaub M, Kräuchi N, Hug C, Landolt W, Bleuler P. Ozone air pollution and foliar injury development on native plants of Switzerland. Environmental Pollution, 2003, 125(1): 41-52.

[6] Ren W, Tian H Q, Tao B, Chappelka A, Sun G, Lu C Q, Liu M L, Chen G S, Xu X F. Impacts of tropospheric ozone and climate change on net primary productivity and net carbon exchange of China's forest ecosystems. Global Ecology and Biogeography, 2011, 20(3): 391-406.

[7] Zhang W W, Feng Z Z, Wang X K, Niu J F. Responses of native broadleaved woody species to elevated ozone in subtropical China. Environmental Pollution, 2012, 163: 149-157.

[8] Feng Z Z, Sun J S, Wan W X, Hu E Z, Calatayud V. Evidence of widespread ozone-induced visible injury on plants in Beijing, China. Environmental Pollution, 2014, 193: 296-301.

[9] Li P, Calatayud V, Gao F, Uddling J, Feng Z Z. Differences in ozone sensitivity among woody species are related to leaf morphology and antioxidant levels. Tree Physiology, 2016, 36(9): 1105-1116.

[10] Feng Z Z, Zeng H Q, Wang X K, Zheng Q W, Feng Z W. Sensitivity of *Metasequoia glyptostroboides* to ozone stress. Photosynthetica, 2008, 46(3): 463-465.

[11] Wittig V E, Ainsworth E A, Naidu S L, Karnosky D F, Long S P. Quantifying the impact of current and future tropospheric ozone on tree biomass, growth, physiology and biochemistry: a quantitative meta-analysis. Global Change Biology, 2009, 15(2): 396-424.

[12] Gao F, Calatayud V, García-Breijo F, Reig-Armiñana J, Feng Z Z. Effects of elevated ozone on physiological, anatomical and ultrastructural characteristics of four common urban tree species in China. Ecological Indicators, 2016, 67: 367-379.

[13] Nikula S, Percy K, Oksanen E, Holopainen T, Manninen S. Effects of elevated ozone on growth and foliar traits of European and hybrid aspen. Boreal Environment Research, 2009, 14(SA): 29-47.

[14] Sun G E, McLaughlin S B, Porter J H, Uddling J, Mulholland P J, Adams M B, Pederson N. Interactive influences of ozone and climate on streamflow of forested watersheds. Global Change Biology, 2012, 18(11): 3395-3409.

[15] Uddling J, Teclaw R M, Pregitzer K S, Ellsworth D S. Leaf and canopy conductance in aspen and aspen-birch forests under free-air enrichment of carbon dioxide and ozone. Tree Physiology, 2009, 29(11): 1367-1380.

[16] Hu E Z, Gao F, Xin Y, Jia H X, Li K H, Hu J J, Feng Z Z. Concentration-and flux-based ozone dose-response relationships for five poplar clones grown in North China. Environmental Pollution, 2015, 207: 21-30.

[17] Krupa S, McGrath M T, Andersen C P, Booker F L, Burkey K O, Chappelka A, Chevone B I, Pell E J, Zilinskas B A. Ambient ozone and plant health. Plant Disease, 2001, 85(1): 4-12.

[18] Sitch S, Cox PM, Collins WJ, Huntingford C. Indirect radiative forcing of climate change through ozone effects on the land-carbon sink. Nature, 2007, 448(7155): 791-794.

[19] Ainsworth E A, Yendrek C R, Sitch S, Collins W J, Emberson L D. The effects of tropospheric ozone on net primary productivity and implications for climate change. Annual Review of Plant Biology, 2013, 63: 637-661.

[20] 任巍, 田汉勤. 臭氧污染与陆地生态系统生产力. 植物生态学报, 2007, 31(2): 219-230.

[21] Hoshika Y, Omasa K, Paoletti E. Both ozone exposure and soil water stress are able to induce stomatal sluggishness. Environmental and Experimental Botany, 2013, 88: 19-23.

[22] 徐文铎, 齐淑艳, 何兴元, 陈玮, 赵桂玲, 周园. 大气中 CO_2、O_3浓度升高对银杏成年叶片气孔数量特征的影响. 生态学杂志, 2008, 27(7): 1059-1063.

[23] 文志, 王丽, 王效科, 李丽, 崔健. O_3和干旱胁迫对元宝枫叶片气孔特征的复合影响. 生态学杂志, 2014, 33(3): 560-566.

[24] 李梅, 徐胜, 张恒庆, 何兴元, 陈玮, 赵诣, 李波. 高浓度 O_3对水蜡叶表皮气孔及其叶组织结构特征的影响. 生态学杂志, 2014, 33(1): 53-58.

[25] 付伟, 邓莉兰, 徐胜, 何兴元, 陈玮, 赵诣, 张娜, 苏丽丽. 臭氧对黄檗幼苗叶片可见伤害及气孔特征的影响. 东北林业大学学报, 2015, 43(2): 14-18.

[26] 辛月, 高峰, 冯兆忠. 不同基因型杨树的光合特征与臭氧剂量的响应关系. 环境科学, 2016, 37(6): 2359-2367.

[27] 刘明智, 努尔巴衣·阿布都沙力克, 潘晓玲. 指甲油涂抹撕取法制取植物叶气孔装片. 生物学通报, 2005, 40(10): 44-44.

[28] Tricker P J, Trewin H, Kull O, Clarkson G J J, Eensalu E, Tallis M J, Colella A, Doncaster C P, Sabatti M, Taylor G. Stomatal conductance and not stomatal density determines the long-term reduction in leaf transpiration of poplar in elevated CO_2. Oecologia, 2005, 143(4): 652-660.

[29] 郑淑霞, 上官周平. 近 70 年黄土高原 3 种植物叶片气孔特征参数比较. 植物资源与环境学报, 2005, 14(1): 1-5.

[30] 郑淑霞, 上官周平. 辽东栎叶片气孔密度及 $\delta^{13}C$ 值的时空变异. 林业科学, 2005, 41(2): 30-36.

[31] Asensi-Fabado A, García-Breijo F J, Reig-Armiñana J. Ozone-induced reductions in below-ground biomass: an anatomical approach in potato. Plant, Cell & Environment, 2010, 33(7): 1070-1083.

[32] Giacomo B, Forino L M C, Tagliasacchi A M, Bernardi R, Durante M. Ozone damage and tolerance in leaves of two poplar genotypes. Caryologia, 2010, 63(4): 422-434.

[33] Gay A P, Hurd R G. The influence of light on stomatal density in the tomato. New Phytologist, 1975, 75(1): 37-46.

[34] Schoch P G, Zinsou C, Sibi M. Dependence of the stomatal index on environmental factors during stomatal differentiation in leaves of *Vigna sinensis* L. I. Effect of light intensity. Journal of Experimental Botany, 1980, 31(5): 1211-1216.

[35] Hoshika Y, Carriero G, Feng Z Z, Zhang Y L, Paoletti E. Determinants of stomatal sluggishness in ozone-exposed deciduous tree species. Science of the Total Environment, 2014, 481: 453-458.

[36] Paoletti E, Grulke N E. Ozone exposure and stomatal sluggishness in different plant physiognomic classes. Environmental Pollution, 2010, 158: 2664-2671.